

# Tutorat 1 er décembre, Pr. Philipp

## I) Rappels embryologie

On commence par le développement de l'embryon, et on arrive à la formation des blastomères et l'implantation dans l'utérus.

Point important : La zone pellucide n'est pas une membrane à proprement dire ! Tant qu'on a cette zone, il n'y a pas d'accrochage à la paroi utérine, il faut qu'elle parte pour l'implantation. A ce stade apparaît une cavité et le renflement cellulaire où apparaissent les premières cellules pluripotentes (avant : totipotent).

A 5-6 jours on a 100 cellules, alors intervient l'implantation, embryoblaste et trophoblaste sont déjà différenciés.

Dans l'embryoblaste apparaît la cavité amniotique, deux feuilletts se développent :

- l'épiblaste au dessus
- l'hypoblaste en dessous

C'est le futur disque embryonnaire didermique. Pendant ce temps le trophoblaste évolue en cyto- et syncytiotrophoblaste. Au fur et à mesure que l'embryon s'implante, le DED se différencie.

La membrane de Heuser provient d'une prolifération épiblastique, qui forme le blastocoele.

Au 14<sup>ème</sup> jour, on a le coelome externe ac une couche périphérique et une couche interne qui sépare la vésicule vitelline et le coelome.

L'épiblaste est le point de départ de tout. Tout l'embryon dérive de l'épiblaste. Les villosités se mettent en place, de même pour le pédicule embryonnaire. On distingue :

- Les mésenchyme extra embryonnaire en périphérie
- La splanchnopleure qui entoure la vésicule vitelline
- La somatopleure qui entoure l'amnios.

Alors apparaît la ligne primitive qui détermine l'axe crânio caudal, et donne le nœud de Hensen d'où vont partir différentes migrations cellulaires, les cellules plongent dans la ligne primitive pour donner le mésoblaste intra embryonnaire. Il y a des territoires présomptifs pour l'ento, l'ecto et le mésoblaste.

Puis mise en place de la corde, qui part du nœud de Hensen. Au début il y a un soulèvement de l'ectoderme, qui donne une structure individualisée : c'est un tube plein (la corde !), qui se creuse en canal, il va fusionner avec l'entoderme et se « réisoler » de l'entoderme, donc on obtient une structure pleine individualisée de l'ento et de l'ectoblaste. Aux extrémités, il y a fusion de l'ento et de l'ectoblaste (là où il n'y a plus de méso). Cela aboutit à la formation du tube neural, d'où se développe la crête neurale. Les cellules de la CN vont migrer à plusieurs endroits.

Les gonocytes dérivent bien de l'épiblaste (ou entoblaste?), et migrent au voisinage de l'allantoïde. On est aux alentours du 18<sup>ème</sup> jour. [NOTA BENE : je suis vraiment pas sur de ce que j'écris, allez vérifier l'info !]

A l'origine on a des cellules mésenchymateuses. Elles vont donner hémangioblastes (progéniteurs du tissu hématopoïétique) et des progéniteurs de cellules épithéliales : les angioblastes. Ceux-ci se différencient en périphérie pour former une « bulle », et développent des expansions latérales pour s'unir entre elles et former un tube : les vaisseaux sanguins. Ces cellules migrent à l'intérieur des tissus et selon le même modèle forment de nouvelles bulles, c'est l'angiogénèse : alors le début de la circulation sanguine est possible.

### 1) Evolution de l'ectoblaste :

Il abouti au neurectoblaste à l'origine du système nerveux, c'est la neurulation.

### 2) Développement du mésoblaste

19<sup>ième</sup> jour au 21<sup>ième</sup> jour : le mésoblaste forme 3 bandes longitudinales : le mésoblaste para axial qui donne les somites, l'intermédiaire qui donne le mésonéphros et le latéral

A la quatrième semaine, le disque embryonnaire de dermique devient tri dermique. Il y a la plicature de l'embryon dans les deux sens (transversal et longitudinal), l'axe transversal qui délimite toutes les structures du corps (intestin primitif, canal vitellin...)

Tout savoir sur le tube neural (dsl pas eu le temps de suivre ☹ ) Le mésoblaste para axial maintenant « somites » explose en trois éléments : les somites deviennent sclérotome (colonne vertébrale : une vertèbre nait de deux demi moitié somites, l'une supérieure l'autre inférieure, entre les deux apparaitra un nerf) myotome (qui va donner les muscles squelettiques avec 4 contingents) et dermatome (peau^^)

Un somite se divise en 3 portions : une supérieure une inférieure, et celle du milieu au niveau du trou de conjugaison est envahie par le sclérotome et va donner le disque intervertébral. Attention il faut 4 hémi somites pour une vertèbre (piège qcm +++).

### 3) Evolution de l'entoblaste

Il va former l'intestin primitif avec trois portions :

- Intestin antérieur
- Intestin Moyen
- Intestion postérieur

Il donne aussi les épithéliums de revêtement et glandulaires. Le tube cardiaque nait dans la zone cardiogène, se développent deux tubes cardiaques avec les angioblastes en dedans et les myoblastes en dehors. Bien connaitre toutes les interconnexions cardiaques.

Bien connaitre les arcs branchiaux, savoir ce que chaque poche va donner (dsl je les ai pas sous la main)

Connaitre les différents bourgeons à l'origine du développement de la face.

## II) Cellules souches : biothérapie

### A) Trois types d'application

Deux grands axes se développent : la culture de peau (grand brûlés) et ajd la greffe de moelle osseuse. Les autres sont en train de naitre. On prélève des cellules du patient ou d'un donneur, elles sont ensuite préparées en labo pour être ensuite greffées. Cela favorise la régénération des tissus lésés, notamment la réparation de tissu cutané, donc on cherche à recréer de l'épiderme pour permettre la reformation de la peau. On fait une biopsie de peau saine. On peut aussi le faire pour les tissus sanguins : on prélève de la moelle osseuse, qu'on concentre en cellules souches puis on les réinjecte dans les tissus lésés. Certaines cellules souches permettent de lutter contre les maladie neurovégétatives . Elles sont appliquées lorsque les thérapies conventionnelles ne donnent pas de résultats satisfaisants.

#### 1) Infarctus

Lorsqu'on réinjecte les cellules mononuclées, elles arrivent dans le tissu lésés dans les capillaires et développe de nouveau réseaux vasculaires. On peut aussi faire une extraction de cellules souches avec des marqueurs particuliers. Les cellules dont on a besoin pour reconstruire le cœur : progéniteurs ou précurseurs de cellules endothéliales. Donc on récupère des cellules mononuclées qu'on purifie grâce à un Ac monoclonal qui permet de ne sélectionner que ces progéniteurs de cellules endothéliales. Réinjectées elles forment des bourgeons qui forment de nouveau vaisseaux, on obtient un nouveau réseau vasculaire.

#### 2) Insuffisance ventriculaire

Défaillance cardiaque, ralentissement vasculaire et en même temps on a une zone du cœur qui présente un ralentissement mécanique. On réinjecte des cellules mononuclées prélevées sur les crêtes iliaques, donc des cellules souches qui permettent de refaire du tissu cardiaque. Celles-ci sont sélectionnées comme précédemment par des Ac monoclonaux, puis retenues grâce à un aimant puissant. Bref la zone lésée sécrète un ensemble de facteurs qui vont activer le développement des cellules souches pour réparer le tisse.

Problèmes :

- il faut beaucoup de cellules, et avec l'âge le nombre de cellules souches diminue. Donc il faut les amplifier. D'autre part, la migration des cellules souches : selon les traumatismes on a des modèles de migration différents. (ex : myoblastes ne migrent qu'à qq millimètres des sites d'injection).
- mort cellulaire précoce : dans les premières heures après l'injection des cellules souches, il y a énormément de cellules qui meurent car il y a des incompatibilités biologiques (immunitaires).
- on a découvert que les tissus lésés sécrètent des substances qui vont alerter la moelle osseuse, elles permettent de guider les cellules souches vers le tissu lésé. Ca ne marche pas bien pour tout le monde... Certains récupèrent bien, d'autre non par manque de cet inducteur. On cherche donc à les synthétiser artificiellement pour les injecter dans les zones lésées chez les patients qui n'en ont pas suffisamment.

### 3) Ischémie des membres inférieurs

En injectant des progéniteurs endothéliaux en intramusculaire, on peut entraîner une néo vascularisation. C'est une forme de « cellule médicament »

## B) Concept de décellularisation

On utilise des détergeant qui coupent toutes les interactions entre la cellule et son micro environnement. Dans une trachée par exemple, on ne recueillera que la structure protéique. Pur le cœur, il devient blanc car il ne reste plus que la matrice. Si on réinjecte de nouvelles cellules souches mélangées à des progéniteurs cardiaques, le cœur se recoloré, il y a prolifération. In vitro, on arrive à refaire battre un cœur. La matrice garde les protéines, la structure, les spécificités, et les cellules se développent dessus, on obtient au final un électro cardiogramme normal. Si on prend un cœur artificiel qu'on met des progéniteurs dessus en théorie maintenant on sait faire un cœur. Il faut identifier les facteurs de la matrice qui permettent le développement fonctionnel des cellules cardiaques.

Diabète insulino-dépendant : on fait des greffes des ilots du pancréas. On prend du pancréas qu'on digère avec de la collagénase, on dissocie les glandes exo et endocrines. Après on fait une séparation par gradient de densité pour avoir des ilots purs.

Ophthlmo : en cultivant des cornées, on peut faire pousser des cellules souches spécifiques à ce tissu en y ajoutant des cellules amniotiques. Cela permet d'augmenter considérablement la transparence de la cornée.

Niveau cutané : on extrait des biopsies de peau, qu'on amplifie, et elle permette de donner des dents, de l'os de la peau des nerfs. On travaille avec des précurseurs, donc on a des ouverture thérapeutique beaucoup plus importants qu'avec des progéniteurs (progéniteur précurseur, ça change une fois sur 2 ☹️) Cela permet aussi de faire des essais thérapeutiques sur le tissu humain, plus adapté que les animaux (ex : produits chimiques à tester)

En neurologie : lorsque l'on a une lésion sur la moelle épinière. Ensuite on réinjecte des progéniteurs qui dans la moelle entourent les fibres, des cellules gliales au niveau central : les oligodendrocytes. Ils vont redéfinir une myélinisation de toutes les fibres lésées, rétablir la vitesse de propagation nerveuse normale. Attention les fibres ne doivent pas être sectionnées !

Transfusions : On commence à transfuser du sang artificiel produit in vitro à partir des propres cellules des patients. On stimule ces cellules avec des facteurs de croissance puis de l'EPO. En pratique ce sera réservé à des patients qui ont des groupes rares ou poly immunisés (à qui on ne peut rien donner parce qu'ils ont tous les anti corps sanguins ou presque), mais l'enjeu est de développer tout ça pour avoir plus de sang.

En dentaire : culture de troisième molaire qui permet d'activer ces cellules souches et de contrôler leur migration jusqu'au tissu lésé, ça permettra une « repousse dentaire » à partir d'un pansement qui contiendra les facteurs qui attireront et permettront le développement des structures de la dent. Apparition de banques de dents.

Onco/hémato : pour faire une greffe de moelle il faut des cellules, prélevées dans la moelle (épine iliaque ou sternum) , dans le sang périphériques (sans anesthésie, on collecte de grandes proportions de cellules souches grâce à un facteur de croissance G-CSF qui fait sortir les cellules souches de la moelle dans le sang, on peut alors faire la prise de sang Ce facteur de croissance voit sa concentration physiologique augmentée en cas d'infection. Le SDF-1 est l'agent attracteur des cellules souches vers les tissus lésés), soit dans le sang de cordon. Don en utilisant un facteur de croissance on fait sortir les progéniteurs, on les prélève, on les concentre et on les congèle. Permet de faire des traitements plus lourds que ce qui est permis ajd.